設施苦瓜栽培技術之研究

張勝智、薛佑光、郭宏遠、邱燕欣
種苗改良繁殖場

一、摘要

近年氣候變化劇烈已成常態，造成生產困難，因此為維持瓜果類蔬菜品質及產量，我國苦瓜生產逐漸朝設施生產演進，然而設施生產雖可提高果實品質，但設施與露天栽培環境差異、設施內缺乏授粉昆蟲、土壤病害如萎凋病等，危害更為嚴重，成為設施栽培苦瓜生產面臨重大挑戰。本研究為改善多種設施苦瓜栽培問題，分別以設施苦瓜栽培生產、蜜蜂授粉技術、苦瓜抗病根砧應用及抗萎凋病有益微生物進行篩選等，提供多樣化解決方案與改善方法之研究。在苦瓜生物防治方面，苦瓜萎凋病拮抗微生物 B-6、B-7、B-8 有較佳的拮抗抑制效果，完成 3 株拮抗微生物 B-6、B-7、B-8 之 16S rDNA 與 GyrB 基因定序並於 NCBI 網站比對，並確認為 Bacillus amyloliquefaciens。接續以溫室防治試驗結果得知，先澆灌再接種萎凋病(FO33)，接種對照組 87%的發病率，處理組 B-7 在接種 35 天後發病率維持在 50%，說明施用拮抗微生物 B-7 具一定效果。在蜜蜂授粉技術與降溫試驗方面，在夏季高溫試驗期間(6/14-7/13)，露天環境下，蜂箱重量逐漸增加(由 1,920 公克增加至 2,060 公克)；而設施內之蜂箱重量呈現下降趨勢(由 2,005 公克下降至 1,840 公克)，蜂群活力亦逐漸下降。在設施內，蜂箱未降溫處理之條件下，六月份下午 13:00-17:00 間均有蜜蜂在巢前搧風降溫，以 13:00-15:00 間數量較多(55-65 隻/小時)，顯示蜂群本身具調節溫度能力，但蜂群活力會持續降低。以本場篩選出之三個南瓜品系(962607a、砧 4 及砧 14)之嫁接苗進行授粉試驗，人工授粉者除在果肩寬及果肉厚顯著大於蜜蜂授粉者外，其餘均無顯著差異，表示此蜜蜂授粉具可行性。在苦瓜用根砧嫁接親和性試驗方面，在不同南瓜根砧(砧 962607a、砧 4 及砧 14)結果得知，雖於雌雄花開花日數與主蔓35節內雌雄花數互有些許差異，但仍不顯著。在不同絲瓜根砧(砧絲 111、絲 157、砧絲 162、農友雙依與自根苗)，自根苗不論在第 1 朵雌雄花開花日與節位、主蔓 35 節之雌花數，均優於嫁接苗，推測可能因嫁接苗生育初期受嫁接傷口癒合影響以及自根苗不需經養生馴化過程，因此造成花期有所延遲。在果實表現方面，3 種絲瓜砧及 3 種南瓜根砧，果實表現均與 CK(農友雙依)及自根苗無顯著差異，說明果實品質不因本次使用之根砧有差異。試驗結果得知，不同根砧，對於果實品質與花期影響不明顯，但因試驗田區均有苦瓜萎凋病的發生，造成生育中後期，自根苗萎凋嚴重，造成中後期果實品質不佳與產量急遽降低，但嫁接苗除因親和性不佳死亡之部分植株外，其餘均無受到影響，並可持續採收，說明本次試驗之根砧於設施應用，仍極有高價值，尤其對於苦瓜採收期延長與苦瓜萎凋病之改善，效果更佳。

關鍵字：苦瓜、根砧、蜜蜂、設施

二、前言

國人生活水準提高，對於蔬果品質需求亦逐年提高，葫蘆科(Cucurbitaceae)蔬菜為台灣重要的夏季蔬果，其中苦瓜(Momordicacharantia L.)更為常見蔬食，屬一年生蔓性草本植物的異交作物 (Behera et al.,2010)。傳統栽培方式以露地生產為主，但常易受病蟲害與環境因素影響，造成農民收益不穩定，因此發展設施蔬果生產即為一種重要的生產模式。

因市場對高品質蔬果需求，農民為改善果實品質等問題，逐漸應用網栽培生產，不但可有效減少瓜實蠅危害(林等，2008)與降雨造成授粉不良及果實品質不佳等問題，在蔬果品質的提升，取得相當的成效。因此農業栽培環境的控制、病蟲害的防治以及消費者對於農產品品質要求的提升，於設施內進行高品質與高單價農作物生產已是當前農業發展之趨勢，然而因設施隔離與化學藥劑使用，環境內昆蟲相趨於簡單化，幾無害蟲存在。因此，利用蜜蜂等授粉昆蟲於設施內協助果菜類作物授粉生產果實，以提升產品品質及安全性確有需求。設施內的微氣候環境明顯與外界不同，因此作物的生育、開花，以及蜜蜂等昆蟲的訪花行為也會受到影響，高溫下常造成蜂群活力的衰弱，因而影響授粉效率。所以維持設施內蜂群活力，以延長其授粉效益及重複利用便為設施生產影響因子。

經多年設施生產後，因缺乏與水田輪作，難以降低田區有害微生物密度，反而導致土壤病害發生嚴重，其中苦瓜萎凋病(*Fusarium oxysporum*f.sp.*momordicae*)危害最鉅，不經由種子傳播，以厚膜孢子存活於土壤中。當種子發芽後，由根尖侵入，不危害幼苗，直到苦瓜定植 30～50 天後，即見下位葉開始往上顯現葉片黃化。常發生於高溫高濕環境，最適發病溫度為 25～30℃。中部地區主要發病期間為大約四月底至五月初，當苦瓜在田間定植30～50天之後，即自下位葉開始往上顯現葉脈透化，葉片黃化與壞疽；初期可見半側枝蔓萎凋，後期則全株枯死，罹病株之根、莖部維管束褐化、壞死，且葉片有葉脈透化和壞疽現象，經常造成植株大量死亡，使農民損失嚴重，更造成市場價格波動，影響民生需求，為改善此種問題，學者研究指出，因尖鐮胞萎凋病對其寄主具有專一性與瓜類作物具嫁接親和性之特性(林與蘇，2008)，因此發展出應用嫁接技術克服此類問題，但嫁接的根砧作物絲瓜在連作下，也可能面臨針對絲瓜感染之絲瓜萎凋病菌(Fusarium oxysporum f. sp. Luffae)的發生，因此，本年計畫嘗試藉由根砧篩選，評估與苦瓜接穗具優良親和性之絲瓜與南瓜根砧，並篩選耐病性佳之絲瓜根砧。在土壤病害如萎凋病之改善方面，篩選萎凋病之拮抗微生物，評估生物防治之應用價值，並配合設施蜜蜂授粉行為研究，以期提升設施苦瓜之品質與產量，並建立優質苦瓜設施栽培與生產模式。

三、材料與方法

3.1 設施蜂箱降溫對蜂群活力及授粉之影響

1.露天無降溫處理對蜂箱內溫濕度及蜂群活力之影響：

試驗時將蜂箱置於戶外，蜂箱內含 4 片巢脾工蜂之西洋蜜蜂。以 HOBO 溫濕度紀錄器記錄周圍環境及巢內溫濕度變化，以 AND GP-60k 磅秤記錄蜂箱重量變化，自上午 04：00 至下午 19：00 止，以昆蟲自動計數器記錄每小時蜜蜂離返巢數量，並以設施內對照，以瞭解蜂群活力之變化。

2.不同環境溫度下對蜜蜂熱調節行為之影響：

試驗於不同月份(6 及 8 月)在苦瓜設施內進行，蜂箱原置於戶外環境，溫度約在 20-25℃之間。於試驗進行前一週，將蜂箱移至試驗設施內，使蜂群適應設施內環境。試驗期間記錄設施內及蜂箱內之溫濕度變化，及巢口降溫工蜂之數量。

3.蜂箱降溫措施對蜂群活力及授粉效益之研究：

試驗於設施內高溫月份(6 月)進行，將蜂箱於試驗前一週先移入苦瓜栽培設施內馴化。試驗時採蜂箱降溫處理，試驗處理分無降溫處理組及兩個降溫處理組，試驗期間記錄溫濕度，選擇紀錄巢內內側巢片溫度、蜜蜂離返巢數量、蜂箱重量及苦瓜果實生育，以評估降溫效益。參試苦瓜品種為本場選育之雜交組合 103H05、根砧品系為本場自行篩選之耐萎凋病南瓜根砧：砧 962607a、砧 4 及砧 14。於設施內分別栽培雜交組合 103H05 苦瓜之三種根砧嫁接苗各 30 株，共 3 重複，每重複 10 株，授粉 2 週，於果實具商品價值時採收，調查果實性狀。

3.2 絲瓜及南瓜根砧評估與接穗苦瓜之親和性測定

1.絲瓜根砧抗苦瓜萎凋病能力評估與篩選

進行絲瓜根砧品系各 20 個已萎凋並進行接種試驗。將根砧用之瓜類種子置床後 3-4 週大植株，以剪根接種，以苦瓜萎凋病孢子懸浮液(10^5cfu/ml)浸泡 10-20 分鐘後，移植於 3 吋盆中，每一品種 5 重複，每重複 3 株，紀錄植株發病情形。發病級數(林與蘇，2001)調查則將發病等級分成 3 級：0＝健康植株；1＝植株矮化、葉片伸展不開、或少於 1/2 葉片黃化萎凋；2＝大於 1/2 葉片黃化萎凋；3＝莖部表面出現褐化病徵繼之植株死亡，再依公式「發病度％ =Σ(發病級數×該級數發病株數)／(3×總調查株數)×１００％」計算。

2.絲瓜及南瓜根砧與接穗苦瓜之親和性測定

選取具優良生長勢及耐病性的絲瓜及南瓜品系作為根砧，配合本場選育之優良苦瓜雜交組合，進行穗砧試驗，篩選 103 年經萎凋病接種試驗具優良抗耐病性與生長勢的 4 個(絲瓜及南瓜)根砧，進行不同嫁接，採 RCBD，每個嫁接(處理)進行 3 重複，每個重複 10 株，並於完成嫁接後進行調查，評估各根砧與接穗親和性。試驗結果以 IBM SPSS Statistics 22 進行 ANOVA 統計分析。

3.3 苦瓜萎凋病生物防治試驗

1.苦瓜萎凋病病原分離與病原性測試

自本場苦瓜試驗田採回黃化萎凋植株，切取褐化維管束置於 Nash-PCN 培養基，待長出分生胞子後，以單胞移殖於 PDA 斜面培養基上純化保存，菌株代碼為 F033。試驗時將 PDA 斜面培養基培養七天之病原菌洗下，製成病原菌胞子懸

浮液，將苦瓜(月珍)催芽後接種，另以無接種病原菌者為對照處理，測定其病原性。

2.拮抗微生物的篩選與有益微生物量產試驗

以對峙培養的方法初篩拮抗微生物，於 28℃恆溫培養箱中對峙培養五天後，量取抑制圈(inhibition zone) 大小及病原菌生長直徑，觀察萎凋菌絲生長受抑制之情形。篩選出之拮抗菌以 20ml PDB 純化培養 5 株拮抗微生物(A-01、B-02、C-03、D-04、E-05)菌液，培養 7 日後，定量為總菌量為 10^8 cfu/ml。

3. 16S rRNA 與 gyrB 區間核酸增量回收解序與比對

利用電泳分析增殖後之 DNA 產物後，以核酸自動定序儀進行核苷酸定序。以 NCBI 之 BLAST 之程式進行線上基因庫（GenBank）之查詢與比對。

4.溫室防治試驗

先澆灌再接種萎凋病，自苦瓜月珍幼苗出土後第 2 天起以 5 株拮抗微生物菌液(10^8cfu/ml)澆灌，每週 1 次，每株澆灌 5ml，每 1 菌株處理 10 株，以不澆灌為對照。3-4 週大植株，以剪根接種法，接種苦瓜萎凋病 F033。接種後持續每週澆灌一次拮抗微生物菌液。每週紀錄植株發病情形。

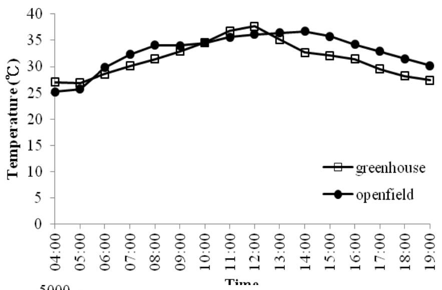
四、結果與討論

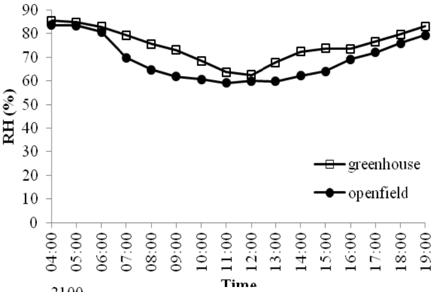
4.1 設施蜂箱降溫對蜂群活力及授粉之影響

1.露天無降溫處理對蜂箱內溫濕度及蜂群活力之影響：

置於露天之蜂箱內溫濕度變化、蜜蜂離返巢數量及蜂群活力之變化，與苦瓜設施內呈現顯著之差異。從溫度之變化觀之，露天之蜂箱內從 04:00 之 25.2℃逐漸上升，至 14:00 達到最高溫(36.7℃)；而設施內之蜂箱溫度則從 04:00 之 27℃逐漸上升，至 12:00 達最高溫(37.7℃)，接著逐漸降溫(圖 1)，從濕度之變化觀之，露天之蜂箱內從 4:00 之 83.5%逐漸下降，之後再逐漸上升至 19:00 的 79.4%；而設施內之蜂箱濕度則從 04:00 之 85.5%逐漸下降，至 12:00 達最低濕(62.5%)，接著逐漸上升(圖 2)，由此可知，露天與設施內蜂箱溫濕度變化趨勢近似，但下午時露天蜂箱之溫度略高於設施內，推測露天下蜂箱內濕度散失快，也可能與苦瓜生長需水量大，因此灌溉頻率高，設施內濕度較高有關。露天環境下，蜜蜂飛行不受阻，且花粉或蜜源植物充足，蜜蜂離巢頻率高，一天當中，天亮後，蜂群大量離巢採集，隨著時間漸增，離巢數量增加，並在 11:00 出現一個離巢高峰(4,761 隻/小時)，之後在逐漸下降；而在設施內，則有兩次蜜蜂離巢高峰，分別在 06:00(3,265 隻/小時)及 15:00(2,949 隻/小時)(圖 3)，上午高峰與蜜蜂離巢採集有關，下午因苦瓜花朵已凋謝，故此時之離巢高峰推測與例行外出訪花或停棲於葉片陰涼處有關。在試驗期間，露天環境下之蜂箱重量增加(由 1,920 公克至 2,060 公克)，而設施內之蜂箱重量則下降(由 2,005 公克下降至 1,840 公克)(圖 4)，推估與蜂箱

內儲糧、蜂群數量增減有關，在一個月內，露天下之蜂群增長，且維持活力旺盛，而設施內蜂箱減輕，蜂群活力下降，離返巢與訪花之蜂群數量亦隨之減少(資料未顯示)。由此可知，在無蜂箱降溫或食物不充足之條件下，若於設施苦瓜花期，短暫密集以蜜蜂進行授粉，除節省授粉人力、過度著果之疏果人力，同時蜂群活力較不受影響，並於授粉後將蜂箱移至室外之方式，可維持蜂群活力，同時配合花期及採果期，數次移入設施內授粉，應值得嘗試。





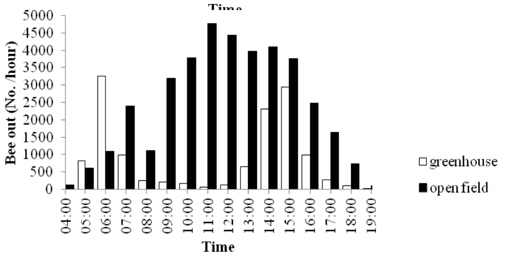


Fig. 3.The difference of bee out numeber of bee hive between openfield and greenhouse.

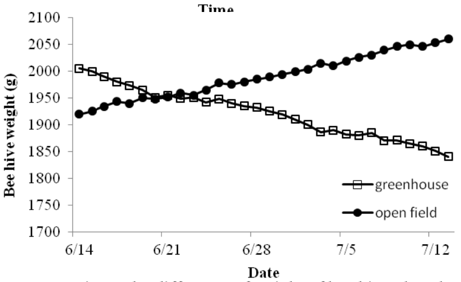


Fig. 4.The difference of weight of bee hive placed in the greenhouse and openfield.

2.不同環境溫度下對蜜蜂熱調節行為之影響

在六月與八月期間，苦瓜設施內的溫濕度變化、蜜蜂離巢情形及蜂箱口降溫情形不同。今(104)年六月的溫度普遍高於八月溫度，主要原因為八月份遇蘇迪勒颱風侵襲及連續降雨，故在 6/9-6/19 與 8/9-8/19 的溫濕度記錄可知(圖 5、6)，八月的濕度亦普遍高於六月。從蜜蜂離巢之記錄可知，設施內蜜蜂離巢約有兩個高峰，一為上午 6:00 左右，另一為下午 14:00-15:00 左右(圖 7)。六月份蜜蜂離巢數普遍高於八月份，推測與六月份多晴天高溫，蜜蜂離巢頻率正常，而八月份因連日陰雨，濕度高，開花數少，蜜蜂離巢相對較少，晴天與陰雨天差異明顯。另，因為六月溫度普遍偏高，故蜂箱內溫度至下午時已偏高，為維持蜂箱內適當溫度，可觀察蜜蜂於巢口前平台搧風降溫(圖 8)，以六月份，下午 13:00-17:00 間均有蜜蜂在巢前搧風，在 13:00-15:00 間數量較多(55-65 隻/小時)，隨後逐漸減少，至 17:00 為 5 隻/小時，18:00 即不見蜜蜂搧風降溫。八月份，則僅在下午 13:00-14:00 可見少量蜜蜂在巢前搧風(分別為 12 隻/小時及 3 隻/小時)。由此推測，蜜蜂在設施內不同月份下，因環境溫濕度不同，具有自身調節蜂箱溫度與濕度之能力，然而，當過度劇烈之溫濕度變化，應會影響蜂群活力。

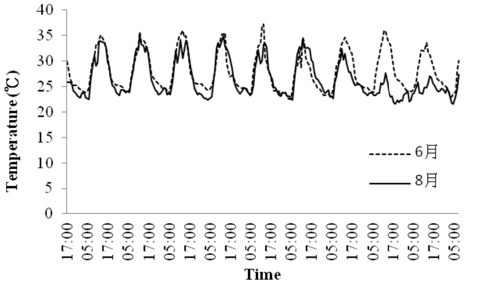


Fig. 5.Changes of temperature in the bitter gourd greenhouse during 6/9-6/19 and 8/9-8/19.

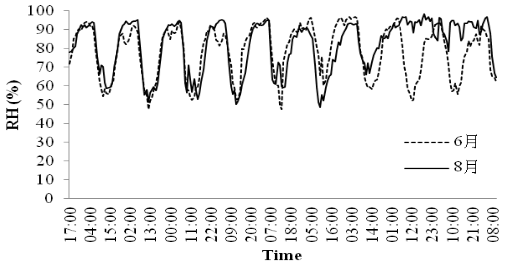


Fig. 6. Changes of temperature in the bitter gourd greenhouse during 6/9-6/19 and 8/9-8/19.

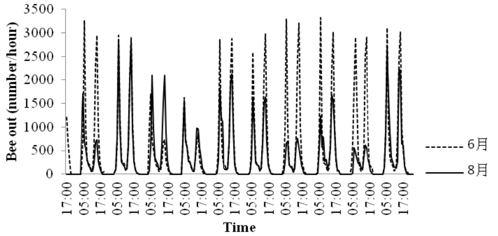


Fig. 7. Bee traffic number in the bitter gourd greenhouse during 6/9-6/19 and 8/9-8/19.

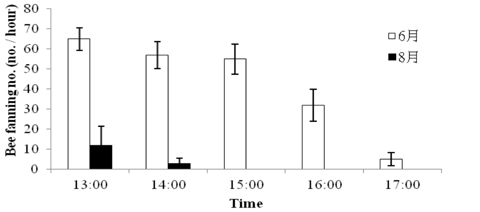


Fig. 8. Bee fanning number in front of the entrance of the hive on June and August.

3.蜂箱降溫措施對蜂群活力及授粉效益之研究:

試驗於設施內高溫月份(6 月)進行，將蜂箱於試驗前一週先移入苦瓜栽培設施內馴化，蜂箱內含 4 片巢脾工蜂之西洋蜜蜂，試驗時採蜂箱降溫處理 I 及 II，授粉試驗為期二週，蜂箱內溫度變化(圖 9)及蜜蜂離巢(圖 10)正常，在短時間內，蜂群活力下降不大，於授粉完畢後，即將蜂巢搬移至溫室外。蜜蜂苦瓜授粉處理中，以三個南瓜根砧嫁接 103H05 雜交一代新品系，結果得知(表 7)，根砧 962607a、砧 4 及砧 14 嫁接苗所採收之果長在 28.1-30.0cm 之間，果寬在 9.6-9.8cm 之間，果實圓周在 31.6-32.3cm 之間，果肉厚在 13.8-14.0mm 之間，果肩寬在 5.3-5.9cm 之間，果重在 653.6-725.6g 之間，單果種子在 24.1-29.1 粒之間，各砧木對相同接穗 103H05 之果實性狀無顯著影響。由試驗結果得知，在降溫及短時間授粉下，溫室內蜂群損失不多，且達到省工授粉之效果，本試驗所採用之本場篩選出之三個南瓜品系，對萎凋病具抗耐性，所以除少數植株死亡外，其餘均能正常著果，且彼此間無顯著差異。人工授粉者除在果肩寬及果肉厚顯著大於蜜蜂授粉者外(表 8)，其餘均無顯著差異，表示此法具有相當之效果。

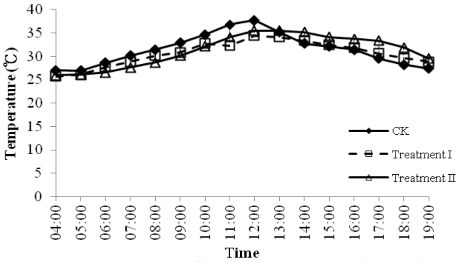


Fig. 9. Changes of bee hive temperature by cooling treatment during one day.

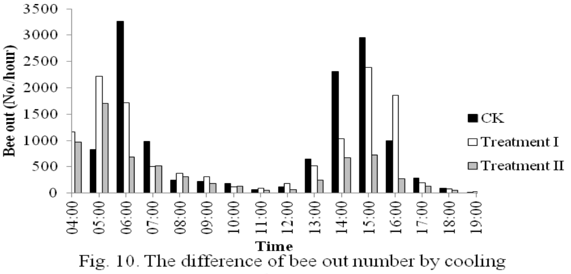


Fig. 10. The difference of bee out number by cooling treatment one day.

4.2 絲瓜及南瓜根砧評估與接穗苦瓜之親和性測定

本年試驗中，以去年度經剪根接種法苦瓜萎凋病汰選出具有優良抗性的絲瓜品系(絲 111、絲 157、絲 162)及優良生長勢之南瓜品系(962607a、砧 4 與砧 14)為材料進行親和性試驗。因試驗材料準備時間與栽培需求，南瓜嫁接苗與絲瓜嫁接苗親和性試驗則於分批次於不同月份進行定植，南瓜嫁接苗於 104 年 4 月 4 日完成定植，絲瓜則於 104 年 9 月 3 日完成定植，並於定植後進行親和性與生育特性調查。

1.南瓜根砧與苦瓜接穗之嫁接苗親和性評估

在比較 3 種不同南瓜嫁接苗生育中期存活率得知，以 962607a 嫁接存活率最高，可達 90%(表 1)，砧 4 與砧 14 則較低，而自根苗到生育中期則已經陸續罹患萎凋病全部死亡。此外，在生育期間，調查主蔓雌雄花第 1 朵開花日與節位(表 2)，結果得知，在雌雄花開花日與雄花開花節位，不同根砧之嫁接苗，彼此差異不顯著。苦瓜授粉處理中，以三個南瓜根砧嫁接 103H05 雜交組合，結果得知(表 3)，根砧 962607a、砧 4 及砧 14 嫁接苗所採收之果長在 27.8-29.1cm 之間，果寬在 10.0-10.2cm 之間，果實圓周在 30.5-31.1cm 之間，果肉厚在 13.8-14.0mm 之間，果肩寬在 5.3-5.7cm 之間，果重在 749.4-755.5g 之間，單果種子在 30.2-30.6 粒之間，各砧木對相同接穗 103H05 之果實性狀無顯著影響。

2.絲瓜根砧與苦瓜接穗之嫁接苗親和性評估

在比較 3 種不同絲瓜嫁接苗生育中期存活率得知，3 種不同絲瓜砧存活率均達 80%以上，其中又以砧絲 111 嫁接苗存活率最高，達 97%(表 4)。在生育期間花性調查方面，結果可得知，自根苗不論在第 1 朵雌雄花開花日與節位、主蔓 35 節之雌花數，均優於嫁接苗，推測可能因嫁接苗生育初期受嫁接傷口癒合影響，造成花期延遲。苦瓜授粉處理中，以三個絲瓜根砧嫁接 103H05 雜交組合，結果得知(表 6)，砧絲 111、砧絲 157 及砧絲 162 採收之鮮果果長在 24.08-27cm，果寬於 100.46-109.23cm，果實圓周長介於 31.46-33.62cm，果肉厚度在 15.69-16.23mm 之間，果肩寬於 6.23-7.23cm，果重為 614.54-755.08g，單果種子粒數介於 27.85-32 粒，各砧木對相同接穗 103H05 之果實性狀無顯著影響，且均對照(農友雙依)及自根苗之果實表現差異不顯著，說明本次 3 個入選根砧對於接穗影響，均與市售根砧及無嫁接之自根苗表現相近。

表 1、設施苦瓜不同南瓜根砧嫁接苗生育中期存活率

根砧代號	種植株數	定植後存活株數	存活率
962607a	30	27	90%
砧-14	30	18	60%
砧-4	30	22	73%
自根苗	30	0	0%

表 2、設施苦瓜不同南瓜根砧對嫁接苗花期之影響

根砧代號	主蔓第 1 朵雌花節位	主蔓第 1 朵雌花開花日	主蔓第 1 朵雄花節位	主蔓第 1 朵雄花開花日	主蔓 35 節內雌花數
962607a	21.70	37.22	16.52	38.07	2.19
砧-14	21.39	37.89	14.22	36.89	2.83
砧-4	22.91	38.59	16.95	38.64	3.41

表 3、設施苦瓜不同南瓜根砧嫁接苗果實生育之影響

根砧代號	果長 (cm)	果寬 (cm)	果實圓周 (cm)	果肩寬 (cm)	果重 (g)	果肉厚 (mm)	單果種子數
962607a	27.8±1.5	10.0±0.1	31.6±0.7	6.4±0.4	711.2±62.5	14.0±0.4	30.4±1.5
砧 4	28.0±0.8	10.2±0.2	32.3±0.6	6.8±0.2	749.4±38.8	14.6±0.3	30.2±1.2
砧 14	29.1±0.6	10.1±0.1	32.1±0.3	6.2±0.2	755.5±38.2	13.8±0.6	30.6±1.2

表 4、設施苦瓜不同絲瓜根砧嫁接苗生育中期存活率

根砧代號	種植株數	定植後存活株數	存活率
砧絲-111	30	29	97%
砧絲-157	30	24	80%
砧絲-162	30	28	93%
CK(雙依)	30	26	87%
自根苗	30	20	67%

表 5、設施苦瓜不同絲瓜根砧對嫁接苗花期之影響

根砧代號	主蔓第 1 朵雌花節位	第 1 朵雌花開花日	主蔓第 1 朵雄花節位	第 1 朵雄花開花日	主蔓 35 節內雌花數
砧絲 111	35.11	45.39	18.39	33.57	0.54
砧絲 157	34.42	42.08	18.13	32.75	0.75
砧絲 162	38.89	42.96	20.00	33.29	0.43
CK(雙依)	38.88	42.47	19.47	31.12	0.47
自根苗	27.58	30.96	16.08	27.38	1.04

表 6、設施苦瓜不同絲瓜根砧嫁接苗果實生育之影響

根砧 代號	果長 (cm)	果寬 (cm)	果重 (g)	果實圓周 (cm)	果肩寬 (cm)	果肉厚 (mm)	單果 種子數
砧絲 111	24.08±1.9	10.0±1.0	614.54±139.8	31.46±2.6	6.62±1.1	15.77±2.6	30.54±7.6
砧絲 157	24.77±2.4	10.0±1.5	646.62±158.0	31.92±3.4	6.23±1.0	15.69±2.6	27.85±5.4
砧絲 162	27.00±2.7	10.9±0.8	755.08±81.4	33.62±2.2	7.23±0.7	16.23±2.3	32.00±8.9
CK(雙依)	25.62±2.0	10.6±0.8	723.15±82.7	33.23±2.9	6.92±0.9	16.54±2.2	32.08±6.5
自根苗	25.69±1.9	10.4±0.9	711.85±131.8	32.31±2.2	7.23±1.0	14.54±1.8	34.08±7.4

表 7、蜜蜂授粉對設施苦瓜不同南瓜根砧嫁接苗果實生育之影響

根砧 代號	果長(cm)	果寬 (cm)	果實圓周 (cm)	果肩寬 (cm)	果重 (g)	果肉厚 (mm)	單果 種子數
962607a	30.0±0.3	9.8±0.1	31.1±0.4	5.9±0.1	725.6±50.0	12.5±0.0	29.1±0.7
砧 4	28.1±0.3	9.6±0.2	30.5±0.6	5.7±0.4	655.9±40.3	12.8±0.5	27.5±1.7
砧 14	28.7±0.8	9.8±0.0	30.5±0.3	5.3±0.1	653.6±31.4	12.3±0.4	24.1±0.3

表 8、人工與蜜蜂授粉對設施苦瓜不同南瓜根砧嫁接苗果實生育之影響

授粉 方式	果長 (cm)	果寬(cm)	果實圓周 (cm)	果肩寬 (cm)	果重 (g)	果肉厚 (mm)	單果 種子數
人工	28.3±0.6	100.6±0.9	32.0±0.3	6.5±0.2*	738.7±24.9	14.1±0.3*	30.4±0.7
蜜蜂	29.0±0.4	97.4±0.8	30.7±0.2	5.7±0.2	678.4±18.9	12.5±0.2	26.9±0.9

4.3 苦瓜萎凋病生物防治試驗

苦瓜萎凋病病原分離與病原性測試以 FO33 致病率最高產孢較為穩定(圖 11)。在拮抗微生物篩選方面，以田間取土進行對峙培養的方法初篩拮抗微生物，於 28℃恆溫培養箱中對峙培養五天後，量取抑制圈(inhibition zone) 大小及病原菌生長直徑，評估萎凋菌絲生長受抑制之情形，篩選出拮抗微生物 B-6、B-7、B-8 有較佳的拮抗抑制效果(圖 12)。經由 16s rDNA 與細菌 DNA 解旋(DNAgyrase)亞單位的基因(gyrB 基因)之序列解序與 NCBI BLAST 比對，完成 3 株拮抗微生物 B-6、B-7、B-8 之 16S rDNA 與 GyrB 基因定序並於 NCBI 網站比對，並確認為 *Bacillus amyloliquefaciens*。後續以 20mlPDB 純化培養于 250ml 凹槽三角燒瓶供試之 5 株拮抗微生物(B-5、B-6、B-7、B-8、B-10)菌液，以 28 培養 7 日後，定量為總菌量為 10^8cfu/ml。經改善接種源濃度，改善有益微生物量產流程可使以 28 培養 7 日後，定量為總菌量增加為 10^9cfu/ml。利用先澆灌再接種萎凋病(FO33)試驗(圖 13)，接種對照組 87%的發病率，處理組 B-7 在接種 35 天後發病率減少至 50%。

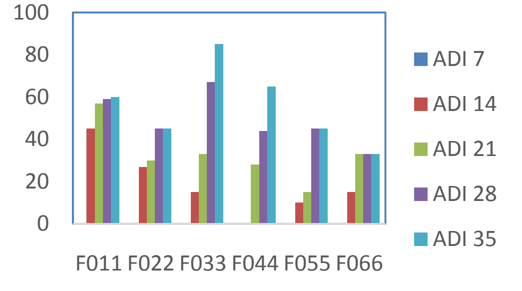


圖11、苦瓜萎凋病菌表現

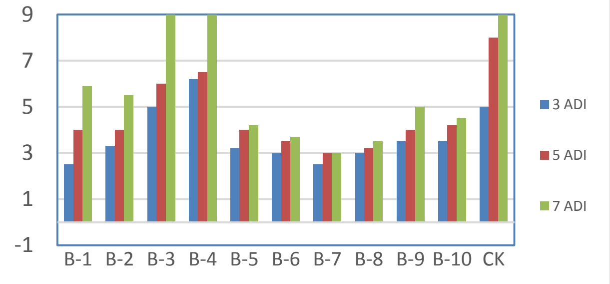


圖12、苦瓜萎凋病F033培養基對峙拮抗試驗

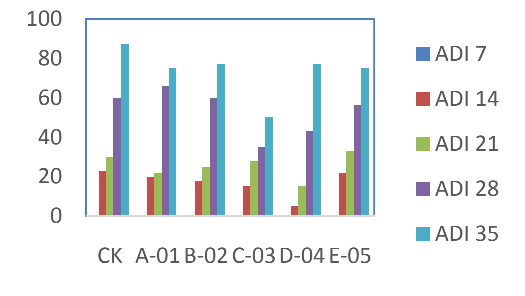


圖13、先澆灌再接種萎凋病(F033)

五、結論

氣候變遷已是近年栽培經常發生的常態，設施栽培為當前減少因環境變異造成果實品質及產量減損的重要方法，但因設施栽培雖可有效維持果品與產量，但因設施環境上的差別，長年栽培所遇到的土壤病害的問題，設施內授粉昆蟲應用等均為後續衍生所需面對的課題。本計畫藉由設施蜜蜂試驗、耐病根砧篩選、土壤拮抗菌應用等，多方面進行改善，以期減少設施栽培困難。在設施蜂箱降溫技術結果得知，在夏季高溫試驗期間(6/14-7/13)，露天環境下，蜂箱重量逐漸增加(由 1,920 公克增加至 2,060 公克)；而設施內之蜂箱重量呈現下降趨勢(由 2,005 公克下降至 1,840 公克)，蜂群活力亦逐漸下降。在設施內，蜂箱未降溫處理之條件下，六月份下午 13:00-17:00 間均有蜜蜂在巢前搧風降溫，以 13:00-15:00 間數量較多(55-65 隻/小時)，顯示蜂群本身具調節溫度能力，但蜂群活力會持續降低。再以降溫(處理 I 及 II)及短時間授粉下，設施內蜂群損失減少。在苦瓜生物防治結果方面，本計畫先進行苦瓜萎凋病病原分離與接種原製備，苦瓜萎凋病病原分離與病原性測試以 FO33 致病率最高產孢較為穩定。拮抗微生物的篩選，以拮抗微生物 B-6、B-7、B-8 有較佳的拮抗抑制效果。經改善接種源濃度，改善量產流程可使以 28 培養 7 日，定量為總菌量提高為 10^9cfu/ml。經由序列解序與 NCBI BLAST 比對，完成 3 株拮抗微生物 B-6、B-7、B - 8 之比對，並確認為 Bacillus amyloliquefaciens。利用防治試驗，先澆灌再接種萎凋病(FO33)，接種對照組 87%的發病率，處理組 B-7 在接種 35 天後發病率

降至 50%。在嫁接親和性試驗方面，因絲瓜砧嫁接苗與南瓜砧嫁接苗，絲瓜嫁接苗存活率均高於南瓜嫁接苗，此結果與邱等(2010)相同，說明在嫁接苗傷口愈和情形，絲瓜優於南瓜根砧。在果實與花性調查，因不同種類根砧之嫁接苗定植日期差距大，且苦瓜果實生育易受日照與氣溫影響，故無法比較兩種不同根砧差異，但仍可分別比較不同南瓜砧或絲瓜砧差異。在不同南瓜根砧(砧 962607a、砧 4 及砧 14)結果得知，雖於雌雄花開花日數與主蔓 35 節內雌雄花數互有些許差異，但仍不顯著。在不同絲瓜根砧(砧絲 111、絲 157、砧絲 162、農友雙依與自根苗)，自根苗不論在第 1 朵雌雄花開花日與節位、主蔓 35 節之雌花數，均優於嫁接苗，推測可能因嫁接苗生育初期受嫁接傷口癒合影響以及自根苗不需經養生馴化過程，因此造成花期有所延遲。在果實表現方面，3 種絲瓜砧(砧絲 111、絲 157 及砧絲 162)及 3 種南瓜根砧(砧 962607a、砧 4 及砧 14)，果實表現均與 CK(農友雙依)及自根苗無顯著差異，說明果實品質不因本次使用之根砧有差異。綜合本試驗結果得知，設施內蜜蜂授粉具有相當可行性，並可有效減少人力消耗，適度的調節溫度可延長蜂群活力。不同根砧，對於果實品質與花期影響不明顯，但因試驗田區均有苦瓜萎凋病的發生，造成生育中後期，自根苗萎凋嚴重，造成中後期果實品質不佳與產量急遽降低，但嫁接苗除因親和性不佳死亡之部分植株外，其餘均無受到影響，並可持續採收，說明本次試驗之根砧於設施應用，仍極有高價值，尤其對於苦瓜採收期延長與苦瓜萎凋病之改善，效果更佳，亦或利用初步篩選之拮抗微生物 B-7，可減少土壤病害的危害，提供多種改善方法之選擇。

六、參考文獻

1. 王俊良、龍啟炎、徐翠容。2013。苦瓜嫁接栽培關鍵技術。上海蔬菜 5: 39-40。
2. 朱進。2012。絲瓜作砧木嫁接對苦瓜生長、產量和品質的影響。湖北農業科學 51 (21) : 4813-4814。
3. 朱耀沂、葉瑩、蕭文鳳、陳系男。1995。瓜類作物保護技術研討會專刊國立嘉義農專植物保護科編印。台灣嘉義。
4. 李伯年。1982。葫蘆科蔬菜。蔬菜育種與採種。
5. 杜金池、張義璋。1992。作物抗病品種之培育。病蟲害非農藥防治技術研討會專刊。pp.233-250。台中霧峰。
6. 杜金池、蕭吉雄、楊偉正。1990。園藝作物育種講習會專刊。台灣省農業試驗所專刊第 31 號。
7. 林益昇。1997。苦瓜嫁接絲瓜砧之方法與病害管理。健康清潔植物培育研習會研討會專刊。pp.99-105。嘉義。
8. 林益昇、宋曉清、黃家興。1992。利用絲瓜抗病根砧防治苦瓜萎凋病。病蟲害非農藥防治技術研討會專刊 pp.251-258。
9. 林益昇、黃家興、宋曉清。1998。苦瓜—絲瓜嫁接株對苦瓜萎凋病之抵抗性及其

產量。植保會刊 40(2)：121-132。
10. 林益昇、蘇俊峯。2008。利用栽培技術防治瓜類作物土壤傳播病害。節能減碳與作物病害管理研討會。p175-191。
11. 李緒友、湯守世、張章松。2014。苦瓜劈接嫁接夾固定嫁接技術。現代農業科技 2: 135-138。
12. 高清文。1989。作物病害非農藥防治法。有機農業研討會專刊。pp.135-140。台中。
13. 戴順發、張武男。1997。蔬菜嫁接之研究與發展。科學農業 45(9,10)：266-274。
14. 李雅惠。2002。拮抗性桿菌屬(Bacillus spp.)之分離、培養與抗生活性之改進以及病害防治之應用。國立中興大學植物病理學系碩士論文。 79 頁。
15. 邱燕欣。2004。拮抗性枯草桿菌 Bacillus subtilis.WG-16 菌株於柑橘潰瘍病防治應用。國立中興大學植物病理學系碩士論文。92 頁。
16. Aizen, M. A. and L. D. Harder. 2009. The global stock of domesticatedhoney bees is growing slower than agricultural demand for pollination.Curr. Biol. 19:915-918.
17. Aizen, M. A., L. A. Garibaldi, and S.A. Cunningham. 2008.Longtermglobal trends in crop yield and production reveal no currentpollination shortage but increasing pollinator dependency. Curr. Biol.18:1572-1575.
18. Beattie, A. J. 1971. Pollination mechanisms in Viola.NewPhytol.70:343-360.45. Behera, T. K. 2008. Heterosis in Bittergourd.Journal of New Seeds,6(2-3):217-221.
19. Delaplane, K. S. And D. F. Mayer. 2000. Crop pollinaiton by bees. CABIntl., Wallingford, U. K.
20. Eckert, C. D., M. L. Winston, and R. C. Ydenberg. 1994. Therelationship between population size, amount of brood, and individualforaging behavior in honey bee, Apismellifera L. Oecologia 97:248-255.
21. Fewell, J. H. and M. L. Winston. 1992. Colony state and regulation ofpollen foraging in honey bee, Apismellifera L. Behav. Ecol.Sociobio.30:387-393.
22. Hubblell, S. P. and L. K. Johnson. 1978. Comparative foragingbehaviour of six stingless bee species exploiting a standardizedresource. Ecology 59:1123-1136.
23. Islam, M. R., M. S. Hossain, M. S. R. Bhuiyan, A. Husna ,and M. A.Syed. 2009. Genetic variability and path-coefficient analysis of bittergourd (Momordicacharantia L.).J. Sustain Agr. 1: 53-57.
24. Jeffree, C. E. and M. M. Yeoman. 1983. Development of intercellularconnections between opposing cells in a graft union. New Phytol. 93: 491-509.
25. Kevan, P. G. and H. G. Baker. 1983. Insects as flower visitors and pollinators. Ann. Rev. Ent. 28:407-453.
26. Lee, J. M. 1994. Cultivation of grafted vegetables Ⅰ. Current status,grafting methods, and benefits. Hort. Science 29 (4) : 235-239.
27. Pankiw, T, R. E. Page, and K. M. Fondrk.1998. Brood pheromonestimulates pollen foraging in honey bee, Apismellifera L. Behav. Ecol.Sociobio. 44:193-198.